

EJU

JP00/ 004

09.02.00

日本特許庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 31 MARCH 2000

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application:

1999年 1月18日

出願番号
Application Number:

平成11年特許願第009672号

出願人
Applicant(s):

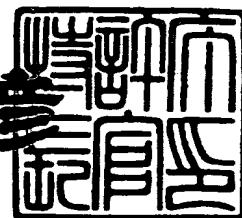
プレシジョン・システム・サイエンス株式会社

PRIORITY
DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 3月17日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

近藤 隆彦



出証番号 出証特2000-3016121

【書類名】 特許願

【整理番号】 1102

【提出日】 平成11年 1月18日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 B01D 35/06

G01N 1/00

G01N 27/00

G01N 31/00

G01N 33/48

G01N 33/50

【発明者】

【住所又は居所】 東京都稲城市矢野口1843番地1 プレシジョン・システム・サイエンス株式会社内

【氏名】 田島 秀二

【特許出願人】

【識別番号】 591081697

【住所又は居所】 東京都稲城市矢野口1843番地1

【氏名又は名称】 プレシジョン・システム・サイエンス株式会社

【代理人】

【識別番号】 100075199

【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門1丁目17番3号 第12森ビル

【弁理士】

【氏名又は名称】 土橋 譲

【電話番号】 03-3580-8931

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 019792

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9714832

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【特許請求の範囲】

【発明の名称】 磁性粒子を利用した濃縮装置及びその方法

【請求項 1】 吸引方向のみの液体の通過が可能な吸引用液通過路と、吐出方向のみの液体の通過が可能な吐出用液通過路と、該液通過路の外部から、液体に懸濁する目的物質を直接的又は間接的に捕獲した磁性粒子を液通過路の内壁に吸着させることによって分離することが可能な磁場を少なくとも一方の該液通過路内に及ぼし且つ磁場を除去することが可能な磁力手段と、該各液通過路と連通し吸引された液体を貯溜する貯溜部と、該貯溜部内の圧力を調整して液体を吸引し且つ吐出する圧力調整手段とを有するものであることを特徴とする磁性粒子を利用した濃縮装置。

【請求項 2】 前記吸引用液通過路及び吐出用液通過路が前記貯溜部の下側で下方に突出し間隔を空けて並設され、該貯溜部の上側に前記圧力調整手段が設けられたものであることを特徴とする請求項 1 記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

【請求項 3】 前記吸引用液通過路と前記吐出用液通過路は、各々、細径の先端部分と太径の部分との略2段形状に形成されたものであることを特徴とする請求項 1 又は請求項 2 のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

【請求項 4】 前記磁力手段は、永久磁石、電磁石又は磁性体物質を前記液通過路の少なくとも一方の外部に設けたものであることを特徴とする請求項 1 に記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

【請求項 5】 前記貯溜部はシリンダを有し、前記圧力調整手段は、該シリンドラ内に嵌挿して摺動するプランジャを有するものであることを特徴とする請求項 1 乃至請求項 4 のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

【請求項 6】 前記圧力調整手段は、該貯溜部に設けられた通気路と、該通気路を介して該貯溜部内の気体の吸入及び排出を行うポンプとを有するものであることを特徴とする請求項 1 乃至請求項 4 のいずれかに記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

【請求項 7】 前記貯溜部は前記圧力調整手段に対して着脱可能に設けられ

たものであることを特徴とする請求項2に記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

【請求項8】 前記圧力調整手段は、前記貯溜部を取り外した場合には、液体の吸引方向及び吐出方向の双方の通過が可能な1本のピペット・チップが装着可能なものであることを特徴とする請求項7に記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

【請求項9】 吸引口及び吐出口を有し内部を液体が通過する少なくとも一部が弹性体で形成された液通過路と、該液通過路の外部から、液体に懸濁する目的物質を直接的又は間接的に捕獲した磁性粒子を液通過路の内壁に吸着させることによって分離することが可能な磁場を液通過路内に及ぼすことが可能な磁力手段と、該液通過路に設けられ、該液通過路を液体の移送方向に沿って、該液通過路を外部から順次収縮させながら液体を移送する蠕動ポンプとを有するものであることを特徴とする磁性粒子を利用した濃縮装置。

【請求項10】 前記液通過路の途中に、分離した磁性粒子を再懸濁して吐出するために液通路を切り替える切り替え機構を設けたことを特徴とする請求項9記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

【請求項11】 前記液通過路の全体又は該液通過路の一部は、分離した磁性粒子を吸着したまま、取り出し可能に設けられたものであることを特徴とする請求項9記載の磁性粒子を利用した濃縮装置。

【請求項12】 請求項1乃至請求項11のいずれかに記載された前記濃縮装置と、該濃縮装置自体及び／又は該濃縮装置外に載置された容器、の移動を可能とする移動手段と、該濃縮装置自体及び／又は移動手段の動作の制御を行う制御手段と、を有することを特徴とする磁性粒子を利用した濃縮システム。

【請求項13】 前記容器は、前記液通過路の吸引口と前記液通過路の吐出口が各々挿入される2つの槽を有し、2つの槽を仕切る仕切部の厚さは、該吸引口と吐出口との間の距離よりも薄く形成されるとともに、各槽の底部は、該仕切部に向かって下がり勾配の斜面を有することを特徴とする請求項12に記載の磁性粒子を利用した濃縮システム。

【請求項14】 前記制御手段は、前記磁力手段が該液通過路に外部から磁場を及ぼした状態で、目的物質が直接的または間接的に捕獲された磁性粒子が懸

濁する第1の容量の懸濁液が収容された容器から吸引して、前記液通過路を通り該懸濁液を通過させることによって、前記磁性粒子を該液通過路の内壁に吸着させて分離し、

前記第1の容量よりも小さい第2の容量の液が収容された容器に前記吸引口及び吐出口を挿入し、磁力手段による磁場を及ぼさない状態で、第2の容量の液を吸引し且つ吐出することによって再懸濁して細菌等の目的物質の懸濁液の濃度を高めることを特徴とする請求項12に記載の磁性粒子を利用した濃縮システム。

【請求項15】 懸濁液中の細菌等の目的物質を直接的または間接的に磁性粒子に捕獲させる捕獲工程と、

目的物質を捕獲した磁性粒子が懸濁する第1の容量をもつ懸濁液を液通過路を通過させる際に、該液通過路の外部から該液通過路内に磁場を及ぼすことによって該通過路の内壁に磁性粒子を吸着して分離する分離工程と、

目的物質を捕獲した磁性粒子を分離した該液通過路に磁場を及ぼさない状態で、第1の容量よりも小さい第2の容量をもつ液を通過させることによって該液中に目的物質を捕獲した磁性粒子を再懸濁する再懸濁工程と、

該懸濁液中に懸濁する目的物質を捕獲した磁性粒子から目的物質を溶出し、磁性粒子のみを分離して、目的物質が濃縮された懸濁液を得る溶出工程とを有することを特徴とする磁性粒子を利用した濃縮方法。

【請求項16】 前記分離工程は、目的物質が捕獲された磁性粒子が懸濁する第1の容量の懸濁液が収容された容器から該懸濁液を吸引して、該液通路の外部から磁場を及ぼす状態で、該懸濁液を該通過路を通過させることによって前記磁性粒子を各液通過路の内壁に吸着させて分離させるものであり、

前記再懸濁工程は、前記第1の容量よりも小さい第2の容量の液が収容された容器に、磁力手段による磁場を及ぼさない状態で、第2の容量の液を吸引し且つ吐出することによって再懸濁することを特徴とする請求項15に記載の磁性粒子を利用した濃縮方法。

【請求項17】 前記分離工程は、磁力手段によって吸引用液通過路及び吐出用液通過路に外部から磁場を及ぼす状態で、目的物質が捕獲された磁性粒子が懸濁する第1の容量の懸濁液が収容された容器から吸引用液通過路を介して懸濁

液を貯溜部に吸引し、吐出用液通過路を介して貯溜部から吐出することによって前記磁性粒子を各液通過路の内壁に吸着させて分離させるものであり、

前記再懸濁工程は、前記第1の容量よりも小さく且つ該貯溜部の容量と同程度以上の第2の容量の液が収容された容器に前記吸引用液通過路と吐出用液通過路を挿入し、磁力手段により磁場を及ぼさない状態で、第2の容量の液を吸引し且つ吐出することによって再懸濁することを特徴とする請求項15に記載の磁性粒子を利用した濃縮方法。

【請求項18】 前記再懸濁工程によって再懸濁された懸濁液が収容された容器に、液体の吸引方向及び吐出方向の双方の液体の通過が可能な液通過路及び該通過路と連通し第2の容量よりも小さい容量をもつ貯溜部をもち、該液通過路の外部から液通過路内に磁場を及ぼし且つ除去する磁力手段をもつピペット装置によって、該液通過路に磁場を及ぼした状態で該懸濁液を吸引及び吐出することにより懸濁液中の磁性粒子を分離し、第2の容量よりも小さい第3の容量をもつ液体中に再懸濁したことを特徴とする請求項17に記載の磁性粒子を利用した濃縮方法。

【請求項19】 前記分離工程は、第1の容器に収容された全懸濁液を第2の容器に移した後、該第2の容器に収容された液を、該液通過路に外部から磁場を及ぼした状態で、さらに、該液通過路を介して吸引し、該第1の容器に該液通過路を介して吐出させることによって、第2の容器に収容された全液を第1の容器に移すことを特徴とする請求項16に記載の磁性粒子を利用した濃縮方法。

【請求項20】 前記分離工程は、第1の容器に収容された全懸濁液を第2の容器に移した後、該第2の容器に収容された液を、該吸引用液通過路及び該吐出用液通過路に外部から磁場を及ぼした状態で、さらに、前記吸引用通過路を介して吸引し、該第1の容器に吐出用通過路を介して吐出させることによって、第2の容器に収容された全液を第1の容器に移すことを特徴とする請求項18に記載の磁性粒子を利用した濃縮方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、磁性粒子を利用した濃縮装置及びその方法に係る。特に、工学分野、医療分野、農学分野、理学分野、薬学分野等のさまざまな分野で、例えば、抗体、抗原等の免疫物質、遺伝子物質（DNA, RNA, mRNA等）、蛋白質、ホルモン物質等の生体高分子、細菌等の生体、その他の医療薬品等の有用物質等について、分離、抽出または回収等の処理を行うために、それに関連して大容量の液体に懸濁する微小量の細菌等の目的物質等を濃縮して小容量の液体に懸濁するように濃度を高めることを自動的に且つ確実に行う医療、検査、診断、治療、研究、定量、定性、測定等に適用する磁性粒子を利用した濃縮装置及び磁性粒子を利用した濃縮方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

従来、大容量（例えば、数リットル）の液体に懸濁した微小量の細菌等（例えば、O-157、クリプトリポリジウム、サルモネラ菌等の水系溶存細菌、DNA等）の生体若しくは生体高分子等の目的物質の回収または抽出等の処理を行うには、フィルタ等で目的物質を分離し、または、目的物質が細菌等である場合には、培養を行って目的物質の濃度を高くして種々の処理を行う必要があった。また、磁性粒子に目的物質を捕獲させて、磁力手段を備えたピペット手段によって磁性粒子を一度に分離可能な程度の小容量の吸引吐出を繰り返して、大容量の懸濁液を分離して濃縮を行う方法があった。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

ところで、目的物質が懸濁する大容量の懸濁液をフィルタを通過させて分離を行う場合、該懸濁液に目的物質以外の夾雑物が多く含まれていたり、濁りや汚れがある場合には、特に該フィルタがメンブレンフィルタ等の場合には目詰まりを起こしやすく、大容量の懸濁物から目的物質を分離するのが困難または手間がかかるという問題点を有していた。また、目的物質が細菌等の場合に培養によって目的物質の濃度を高める方法は、手間、時間及びコストがかかるという問題点を有していた。さらに、ピペット手段によって小容量毎の吸引、吐出、移動を繰り返して大容量の懸濁液を分離することは、他の方法に比較すれば優れた技術であ

って、一定の成果を得ることができるが、より一層効率的で迅速に濃縮処理を行う方法が望まれている。

【0004】

また、細菌等のように人間等の生物に影響を与えるものを扱う場合を考慮して、人間の手を煩わせることの少ない、自動的に処理を行えるとともに、懸濁液が機構部分になるべく接触せず、機構部分の洗浄の必要がなく、再利用可能な効率が良く、信頼性のある装置が望まれている。

【0005】

そこで、本発明の第1の目的は、簡単な構成によって、小さな装置規模によって大容量の液体の濃縮を効率的且つ確実に行うことができる磁性粒子を利用した濃縮装置及び磁性粒子を利用した濃縮方法を提供することである。

【0006】

第2の目的は、培養工程を経ることなく、または培養工程を最小限に行うこと、短時間で、目的物質が希薄に懸濁した大容量の懸濁液について、濃縮を行うことができる磁性粒子を利用した濃縮装置及び磁性粒子を利用した濃縮方法を提供することである。

【0007】

第3の目的は、細菌等の目的物質が懸濁する懸濁液との接触が小さく、特に、機構的部分との接触が最小限で済む磁性粒子を利用した濃縮装置及び磁性粒子を利用した濃縮方法を提供することである。

【0008】

第4の目的は、効果的に又は自動的に目的物質を濃縮することができる効率の良い磁性粒子を利用した濃縮装置及び磁性粒子を利用した濃縮方法を提供することである。第5の目的は、細菌等の微生物やDNA物質等の生体高分子を扱うのに適した磁性粒子を利用した濃縮装置及び磁性粒子を利用した濃縮方法を提供することである。

【0009】

【課題を解決するための手段】

以上の技術的課題を解決するために、第一の発明は、吸引方向のみの液体の通

過が可能な吸引用液通過路と、吐出方向のみの液体の通過が可能な吐出用液通過路と、該液通過路の外部から、液体に懸濁する目的物質を直接的又は間接的に捕獲した磁性粒子を液通過路の内壁に吸着させることによって分離することが可能な磁場を少なくとも一方の該液通過路内に及ぼし且つ磁場を除去することが可能な磁力手段と、該各液通過路と連通し吸引された液体を貯溜する貯溜部と、該貯溜部内の圧力を調整して液体を吸引し且つ吐出する圧力調整手段とを有するものである。

【0010】

ここで、「目的物質を直接的に捕獲する」とは、細菌等の目的物質を磁性粒子と結合させることによって捕獲することをいう。そのためには、目的物質と結合する物質をコーティング等によって磁性粒子にもたせる必要がある。

【0011】

「目的物質を間接的に捕獲する」とは、磁性粒子及び目的物質以外の担体を用いて、該担体が磁性粒子及び目的物質の双方と結合することによって磁性粒子が目的物質を捕獲することをいう。該担体としては、例えば、ハイドロキシアパタイト等のゲル状物質やセルロースキャリア等がある。ハイドロキシアパタイト等のゲル状物質を担体として用いた場合には、該ゲル状物質が磁性粒子及び目的物質の双方を内部に取り込むことによって捕獲する。また、セルロースキャリアを担体として用いた場合には、セルロースキャリアが有する穴や空隙に磁性粒子及び目的物質を付着等をさせることによって捕獲する。捕獲は、目的物質が含まれる液体中に、磁性粒子または磁性粒子と担体を投入して混合または攪拌等を行うことによって可能である。また、磁性粒子に捕獲された目的物質は、攪拌や熱等による物理的処理によって、またはハイドロキシアパタイトのようにpHを調整して溶かしたり、試薬を混合する等の化学的処理によって磁性粒子から溶出または乖離することができる。

【0012】

また、該吸引用液通過路及び吐出用液通過路は、例えば、逆止弁等によって液体の吸引方向及び吐出方向の通過のみを可能とする。逆止弁は、吸引用液通過路及び吐出用液通過路の一部に設けられていても良いし、該吸引用液通過路及び吐

ジャを有するものである。ここで、貯溜部内では、吸引された液体の液面とピストンの下端面とは空気層を介して接触しないように制御するのが好ましい。これによって、機構部分と懸濁液との接触が避けられるので、洗浄なしに再利用が可能となる。また、該プランジャの外周に沿ってOリング用溝を設け、弾性体で形成されたOリングを該溝に装着したものが好ましい。これによって、液漏れを確実に防止することができる。

【0017】

第六の発明は、第一の発明乃至第四の発明のいずれかにおいて、前記圧力調整手段は、該貯溜部に設けられた通気路と、該通気路を介して該貯溜部内の気体の吸入及び排出を行うポンプとを有するものである。これによって、貯溜部に複雑な機構的な部分を設けずに済み、構造が簡単化でき且つ洗浄等が容易である。

【0018】

第七の発明は、第二の発明において、前記貯溜部は前記圧力調整手段に対して着脱可能に設けられたものである。ここで、吸引用液通過路及び吐出用液通過路は前記貯溜部と一体に形成しても良いし、貯溜部に対して着脱可能に設けても良い。本発明によれば、貯溜部は、吸引用液通過路及び吐出用液通過路を含めて圧力調整手段に対して着脱可能に設けられているので、新たな貯溜部を装着することによって、洗浄することなく処理を進めることができるので迅速に処理が可能である。

【0019】

第八の発明は、第七の発明において、前記圧力調整手段は、前記貯溜部を取り外した場合には、液体の吸引方向及び吐出方向の双方の通過が可能な1本のピペット・チップが装着可能なものである。これによって、同一の圧力調整手段を用いて、懸濁液と接触する部分のみを交換することによって、効率的に処理を行うことができる。

【0020】

第九の発明は、吸引口及び吐出口を有し内部を液体が通過する少なくとも一部が弾性体で形成された液通過路と、該液通過路の外部から、液体に懸濁する目的物質を直接的又は間接的に捕獲した磁性粒子を液通過路の内壁に吸着させること

によって分離することが可能な磁場を液通過路内に及ぼすことが可能な磁力手段と、該液通過路に設けられ、該液通過路を液体の移送方向に沿って、該液通過路を外部から順次収縮させながら液体を移送する蠕動ポンプを用いたものである。これによって、簡単な構成で且つ簡単な制御で、懸濁液中の磁性粒子を漏れなく液通過路中に分離し、また、再懸濁することができる。その際、該懸濁液と移送のための機構的部品や磁力手段との接触がないので、該液通過路の洗浄または取り替えのみで、再利用することができる。

【0021】

第十の発明は、第九の発明において、前記液通過路の途中に、分離した磁性粒子を再懸濁して吐出するために液通路を切り替える切り替え機構を設けたものである。ここで、切替えのためには、例えば、液通過路の途中に貫通孔を有するロータを回転可能に設け、懸濁液から磁性粒子を分離する場合には、該液通過路と連通するようにロータの回転位置を設定し、再懸濁の際には、液体の吸引方向及び吐出方向の双方の通過が可能であって、内部に磁場を及ぼすことが可能な磁力手段を備えた別の液通過路（ピペット手段）と連通するような回転位置に設定するものであっても良い。

【0022】

第十一の発明は、第九の発明において、前記液通過路の全体又は体液通過路の一部は、分離した磁性粒子を吸着したまま、取り出し可能に設けられたものである。取り出し可能とする構成としては、例えば、液通過路全体を枠体等に取りついている部材を外すことによって、または、液通過路の一部のみが液通過路の他の部分から取り外し可能に設けられているような場合がある。取り外した部分を、そのまま処理を行うための装置等に直接取り付けて用いるようにしても良い。

【0023】

第十二の発明は、第一の発明乃至第十一の発明のいずれかに記載された前記濃縮装置と、該濃縮装置自体及び／又は該濃縮装置外に載置された容器、の移動を可能とする移動手段と、前記液体駆動手段、磁力手段及び／又は移動手段の動作の制御を行う制御手段と、を有するものである。これによって、濃縮処理を一括して自動化することができる。

【0024】

第十三の発明は、第十二の発明において、前記容器は、前記液通過路の吸引口と前記液通過路の吐出口が各々挿入される2つの槽を有し、2つの槽を仕切る仕切部の厚さは、該吸引口と吐出口との間の距離よりも薄く形成されるとともに、各液収容部の底部は、該仕切部に向かって下がり勾配の斜面を有するものである。これによって、液通過路の吸引口と吐出口を各槽に挿入して大容量の液体を残らず吸引し、吐出することができる。また、迅速に且つ効率的に濃縮を行うことができる。

【0025】

第十四の発明は、第十二の発明において、前記制御手段は、前記磁力手段が該液通過路に外部から磁場を及ぼした状態で、目的物質が直接的または間接的に捕獲された磁性粒子が懸濁する第1の容量の懸濁液が収容された容器から吸引して、前記液通過路を通り該懸濁液を通過させることによって、前記磁性粒子を該液通過路の内壁に吸着させて分離し、前記第1の容量よりも小さい第2の容量の液が収容された容器に前記吸引口及び吐出口を挿入し、磁力手段による磁場を及ぼさない状態で、第2の容量の液を吸引し且つ吐出することによって再懸濁して細菌等の目的物質の懸濁液の濃度を高めるものである。

【0026】

ここで、前記分離は、液通過路が吸引すべき懸濁液がなくなるまで続ける。吸引すべき懸濁液がなくなった場合には、さらに、吐出された液について該液通過路によって吸引することによって分離を行うことができる。このようにして、分離を繰り返すことによって、磁性粒子の分離をより確実に行うことができる。

【0027】

第十五の発明は、懸濁液中の細菌等の目的物質を直接的または間接的に磁性粒子に捕獲させる捕獲工程と、目的物質を捕獲した磁性粒子が懸濁する第1の容量をもつ懸濁液を液通過路を通過させる際に、該液通過路の外部から該液通過路内に磁場を及ぼすことによって該通過路の内壁に磁性粒子を吸着して分離する分離工程と、目的物質を捕獲した磁性粒子を分離した該液通過路に磁場を及ぼさない

状態で、第1の容量よりも小さい第2の容量をもつ液を通過させることによって該液中に目的物質を捕獲した磁性粒子を再懸濁する再懸濁工程と、該懸濁液中に懸濁する目的物質を捕獲した磁性粒子から目的物質を溶出し、磁性粒子のみを分離して、目的物質が濃縮された懸濁液を得る溶出工程とを有するものである。

【0028】

ここで、目的物質のみが濃縮された懸濁液を得るための溶出工程は、例えば、懸濁攪拌等の物理的な処理によって、又は所定の試薬等を混合した化学的な処理によって行われる。

【0029】

第十六の発明は、第十五の発明において、前記分離工程は、目的物質が捕獲された磁性粒子が懸濁する第1の容量の懸濁液が収容された容器から該懸濁液を吸引して、該液通路の外部から磁場を及ぼす状態で、該懸濁液を該液通過路を通過させることによって前記磁性粒子を各液通過路の内壁に吸着させて分離させるものであり、前記再懸濁工程は、前記第1の容量よりも小さい第2の容量の液が収容された容器に、磁力手段による磁場を及ぼさない状態で、第2の容量の液を吸引し且つ吐出することによって再懸濁する。

【0030】

第十七の発明は、第十五の発明において、前記分離工程は、磁力手段によって吸引用液通過路及び吐出用液通過路に外部から磁場を及ぼす状態で、目的物質が捕獲された磁性粒子が懸濁する第1の容量の懸濁液が収容された容器から吸引用液通過路を介して懸濁液を貯溜部に吸引し、該吐出用液通過路を介して貯溜部から吐出することによって前記磁性粒子を各液通過路の内壁に吸着させて分離させるものであり、前記再懸濁工程は、前記第1の容量よりも小さく且つ該貯溜部の容量と同程度以上の第2の容量の液が収容された容器に前記吸引用液通過路と吐出用液通過路を挿入し、磁力手段により磁場を及ぼさない状態で、第2の容量の液を吸引し且つ吐出することによって再懸濁するものである。

【0031】

また、「第1の容量よりも小さく且つ該貯溜部の容量と同程度以上の第2の容量」としたのは、該濃縮装置の各液通過路の内壁に吸着して分離させた磁性粒子

を効率的且つ確実に再懸濁させるためには、該装置が分離した磁性粒子に一度の吸引又は吐出で加えうる最大の液量である貯溜部を満たす程度の液量を用いれば、最大限効率的に磁性粒子を内壁から剥がして再懸濁を行うことができるからである。

【0032】

第十八の発明は、第十七の発明において、前記再懸濁工程によって再懸濁された懸濁液が収容された容器に、液体の吸引方向及び吐出方向の双方の液体の通過が可能な液通過路及び該通過路と連通し第2の容量よりも小さい容量をもつ貯溜部をもち、該液通過路の外部から液通過路内に磁場を及ぼし且つ除去する磁力手段をもつピペット装置によって、該液通過路に磁場を及ぼした状態で該懸濁液を吸引及び吐出することにより懸濁液中の磁性粒子を分離し、第2の容量よりも小さい第3の容量をもつ液体中に再懸濁したものである。

【0033】

第十九の発明は、第十六の発明において、前記分離工程は、第1の容器に収容された全懸濁液を第2の容器に移した後、該第2の容器に収容された液を、該液通過路に外部から磁場を及ぼした状態で、さらに、該液通過路を介して吸引し、該第1の容器に該液通過路を介して吐出させることによって、第2の容器に収容された全液を第1の容器に移すものである。

【0034】

第二十の発明は、第十八の発明において、前記分離工程は、第1の容器に収容された全懸濁液を第2の容器に移した後、該第2の容器に収容された液を、該吸引用液通過路及び該吐出用液通過路に外部から磁場を及ぼした状態で、さらに、前記吸引用通過路を介して吸引し、該第1の容器に吐出用通過路を介して吐出させることによって、第2の容器に収容された全液を第1の容器に移すものである。これによって、懸濁液中に残留している磁性粒子をも漏れなく分離することができる。また、第1の容器に全液が移った場合には、さらに第十六の発明により、分離処理を繰り返すことが可能である。

【0035】

【発明の実施の形態】

本発明に係る磁性粒子を利用した濃縮装置等の実施の形態について、図面に基づいて説明する。また、この実施の形態は特に指定のない限り本発明を制限するものではない。第一の実施の形態に係る濃縮装置10を、図1に基づいて説明する。

【0036】

該濃縮装置10は、略円筒状に形成され、吸引方向のみの液体の通過が可能な吸引用液通過路11と、略円筒状に形成され、吐出方向のみの液体の通過が可能な吐出用液通過路12とが下方に向けて平行して突出するように設けられている。

【0037】

該吸引用液通過路11と吐出用液通過路12はポリプロピレン等によって形成されている。各液通過路11、12は、細径の先端部11a、12aと、やや径の太い分離領域部11b、12bとから形成されている。各径の太さは、例えば、細径が口径約2~3mmのオーダ程度であり太径の口径が約5mmのオーダ程度であり、該各液通過路11、12の長さは、例えば、約10cmのオーダ程度である。該分離領域部11b、12bの外部には、該液通過路11b、12b内に磁場を及ぼし該液通過路11、12を通過する懸濁液中の磁性粒子を、該液通過路11、12の内壁に吸着して分離することが可能となる大きさの磁場を及ぼし、また除去する磁力手段13が設けられている。該磁力手段13としては、例えば、永久磁石を該液通過路11、12の並び方向及び該液通過路11、12の突出方向に対して直交する方向に沿って、該液通過路11、12に対して接近及び離間可能に設けることによって、又は電磁石を該液通過路11、12の外部に設け、磁場を発生させ、若しくは除去するように、又は、磁性体物質を設け該磁性体物質を磁化させ若しくは消磁するように設けても良い。

【0038】

該各液通過路11、12は、接続部14を介して貯溜部15と連通する。接続部14は、貯溜部15を形成するシリンダ状のハウジング15aの下端部に嵌着されネジ止め等によりハウジング15aに固定されている。接続部14は2本の貫通孔が上下方向に穿設され該貫通孔に吸引方向のみの液の通過を可能とする逆

止弁14aと、吐出方向のみの液の通過を可能とする逆止弁14bとが設けられている。接続部14のハウジング15aと接触する外周に沿ってOリング用の溝が形成され該溝にOリング14aが挿着されている。接続部14の下端は、前記吸引用液通過路11及び吐出用液通過路12が挿着可能なノズル14d, 14eが設けられている。

【0039】

該接続部14と該ハウジング15aにより囲まれた貯溜部15には、前記圧力調整手段であるプランジャ16が摺動可能に設けられている。

プランジャ16の外周に沿って、例えば、2本の溝が形成され該溝には、Oリング16aが挿着されている。プランジャ16は、例えば、図示されたような上死点16cと接続部14の上端の下死点との間（ストローク16d）で往復運動が可能である。

【0040】

該プランジャ16を駆動するための機構は、指示によって所定角度及び所定スピードでの正逆回転が可能なステッピング・モータ20と、該ステッピング・モータ20によって回転する回転軸21と、該回転軸21を軸支する軸受23と、該回転軸21に固定して設けられ外周面がブーリ等に形成された伝達駆動部22と、前記プランジャ16の中心近傍に穿設された穴16bに固定され、上方向に向かって突出するように設けられたボールねじ17と、内周面が該ボールねじ17と螺合し外周面がブーリ等に形成され回転可能に支持されたボールねじ駆動部18と、該ボールねじ駆動部18と前記伝達駆動部22との間に掛け渡されたタイミングベルトやチェーン等の伝達機構を有するとともに該伝達機構やボールねじ駆動部18を軸支し、支持部材24に固定されたアーム状部材19と、ハウジング15aを固定するとともに支持部材24に固定された固定部材25とを有する。

【0041】

さらに、該濃縮装置10は、全体として、容器との間を移動可能にする移動部（図示せず）が設けられている。移動部は、濃縮装置10を移動可能とする場合と、容器のみを移動可能とする場合及び分注装置と容器の双方を移動可能とする

場合がある。

【0042】

尚、本実施の形態では、該濃縮装置10自体及び容器が載置されたステージの移動を行う移動部（図示せず）が設けられている。さらに、該濃縮装置10の圧力調整手段に設けられたステッピングモータ20や、磁力手段13の磁場の制御を行うための制御手段であるコンピュータ、CRT等の表示部、キーボード、マウス、フロッピー、CDやMO等のプログラムやデータが記録された記録媒体を読み取る読取装置等の入力部、インターネット等に接続する通信部等を有する情報処理装置（図示せず）が設けられている。

【0043】

図2は、第二の実施の形態に係る濃縮装置30を示すものである。図1と同一の符号は同一のものを表すので説明を省略した。図2（a）に示すように、第二の実施の形態に係る濃縮装置30は、第一の実施の形態に係る濃縮装置10と同様に吸引用液通過路11と、吐出用液通過路12とが下方に向けて平行して突出するように設けられている。

【0044】

また、各液通過路11、12の分離領域部11b、12bの外部には、各液通過路11b、12b内に磁場を及ぼし各液通過路11、12を通過する懸濁液中の磁性粒子を、該液通過路11、12の内壁に吸着して分解することが可能となる磁場を発生し、また除去することが可能であり且つ上下方向に移動可能な磁力手段31が設けられている。該磁力手段31としては、例えば、永久磁石を該液通過路11、12の並び方向及び該液通過路11、12の突出方向に対して直交する方向に沿って、該液通過路11、12に対して接近及び離間可能に設けることによって、電磁石を設けて電流を流し若しくは遮断させ、または、磁性体物質を設けて、磁化若しくは消磁することによって磁場を発生し若しくは除去するようにするのが好ましい。

【0045】

該各液通過路11、12は、接続部14を介して貯溜部32と連通する。貯溜部32は、シリンダ状のハウジング32aを有し、その下端部では、該ハウジン

グ3 aに嵌着されネジ止め等により固定された接続部14を有し、その上端部では、栓部33が嵌着されネジ止め等により着脱可能に固定されている。該栓部33の下端中央には円柱状の凸部34が下方向に突出するように設けられている。該栓部33及び凸部34の中心軸に沿って、貫通孔33aが設けられるとともに、該栓部33がハウジング32aと接触する部分には、該栓部33の外周に沿って溝33bが穿設され、Oリングが挿着されている。該栓部33の外周に沿って環状のフランジ33cが設けられ、該栓部33に挿着されたハウジング32aのそれ以上の挿入を止めて該貯溜部32の位置決めがされる。

【0046】

前記貯溜部32は、貫通孔32a及び通気管35を介して、圧力調整手段としてのポンプ36と連通する。該ポンプ36によって、該貯溜部32に気体が吸入され、貯溜部32から気体が排気される。ポンプ36にはプランジャ37を有し上死点の位置と下死点の位置37cとの間(ストローク37d)で上下運動が可能である。プランジャ37の外周に沿って溝37aが形成され、該溝37aにはOリングが挿着されている。該プランジャ37の中心近傍に穿設された穴37bに固定され、下方向に向かって突出するように設けられたボールねじ38と、内周面が該ボールねじ38と螺合し外周面がブーリ等に形成され回転可能に支持されたボールねじ駆動部39とを有する。

【0047】

本実施の形態に係る濃縮装置30は、前記吸引用液通過路11、吐出用液通過路12、接続部14及び貯溜部32は、前記栓部33に対して着脱可能に設けられている。該貯溜部32等を該栓部33から取り外した場合には、図2(b)に示すように、前記突起部34にピペットチップ50が装着可能である。該ピペットチップ50は、上部で該突起部34に取り付けられる太径の貯溜部と、該貯溜部と連通し、該貯溜部より細径の液通過路とを有する。該液通過路は、さらに、磁場が内部に及ぼされ磁性粒子を内壁に吸着して分離する分離領域部と、該分離領域部より細径の先端部とを有する。該ピペットチップ50を装着した場合には、前記磁力手段31を、該ピペットチップ50の分離領域部の位置にまで移動させて、該分離領域部に確実に磁場が及ぼされるように設定する。

【0048】

第三の実施の形態に係る細菌等の懸濁液濃縮方法を図3に基づいて説明する。

該方法は、前記濃縮装置30を用いるとともに、前記吸引用液通過路11と前記吐出用液通過路12が各々挿入される2つの槽62、63を有する濃縮用の第1の容器60及び通常の第2の容器を用いる。

【0049】

該濃縮用の第1の容器60は、2つの槽62、63を仕切る仕切部61の厚さは、該吸引用液通過路11と吐出用液通過路12との間の距離よりも薄く形成されるとともに、各槽62、63の底部は、該仕切部61に向かって下がり勾配をもつ斜面が形成された容器である。

【0050】

該細菌等の懸濁液の濃縮を行う場合には、予め、目的物質である細菌等が直接的または間接的に捕獲された磁性粒子が懸濁する大量の懸濁液を前記濃縮用容器60の一方の槽62に収容しておく。また、該濃縮装置30の貯溜部32の容量の大きさ程度の水や必要な試薬が溶けた水溶液を通常の容器に収容しておく。

【0051】

前記磁性粒子が間接的に細菌等を捕獲するには、ハイドロキシアパタイト等のゲル状物質の微小な担体と、目的物質である細菌等と、コーティング等がされていない α -磁性粒子とを液中で混合または懸濁することによって行う。これによつて、前記ゲル状物質の微小な担体が、前記細菌等及び α -磁性粒子を内部に取り込むことによって、 α -磁性粒子が間接的に細菌等の目的物質を捕獲させるようにする。磁性粒子が直接的に細菌等を捕獲するには、磁性粒子自体に細菌等と結合可能な物質をコーティングした β -磁性粒子を用いる。

【0052】

ステップS1で、操作者は、例えば、前記情報処理装置に指示を行うことによつて、該濃縮装置30を上下方向または水平方向に移動させることによって、該濃縮装置30の該吸引用液通過路11を、前記濃縮用容器60のうち大量の懸濁液が収容されている槽62に挿入し、該吐出用液通過路12を、該濃縮用容器60のうち空の槽63に挿入する。次に、前記磁力手段13の永久磁石または電磁

石を各液通過路11、12の外部から該各液通過路11、12に接近させることによって、該液通過路11、12内に磁場を及ぼす。磁場を及ぼした状態で、前記プランジャ37を上死点から下方向に動かすことによって、空気層を挟んだ状態で前記懸濁液を吸引用液通過路11を介して貯溜部15にまで吸引させる。

【0053】

該プランジャ37の駆動は、前記ステッピング・モータ20の回転駆動によって、回転する回転軸21に固定された駆動部22の回転が伝達機構を通してボールねじ駆動部39を回転させる。該ボールねじ駆動部39の回転によって、該ボールねじ駆動部39と螺合するボールねじ38を回転させずに下方向に並進移動させる。このボールねじ38の並進移動によって該プランジャ37が下方向に移動し、吸引用液通過路11から該懸濁液を該貯溜部32に吸引する。懸濁液を貯溜部32に吸引すると、前記プランジャ37を下死点から上方向に移動させ、貯溜部32に吸引された液は、前記吐出用液通過路12を介して前記濃縮用の第1の容器60の他方の空の槽63に吐出される。

【0054】

このようにして、該懸濁液が各液通過路11、12を通過する際に、該懸濁液に含まれる目的物質を担体を介して捕獲した α -磁性粒子が各液通過路11、12の内壁に吸着して分離される。この吸引及び吐出は、一方の槽62の全懸濁液を他方に移し替えるまで行われる。該移し替えが終了した後、濃縮装置30を上方向に移動して、該容器60を 180° 回転させるか又は該濃縮装置30を 180° 回転させた後再び該濃縮装置30を下方向に移動させ、吸引用液通過路11を移し替えた懸濁液が収容されている槽63に、吐出用液通過路12を空の槽62に挿入する。その際、既に分離した α -磁性粒子は該液通過路に吸着させたまま、以上のステップを1回以上繰り返しても良い。これによって、懸濁液中の α -磁性粒子を、より一層確実に分離することができる。

【0055】

ステップS2で、分離された磁性粒子は、該濃縮装置30に吸着したまま、該濃縮装置30を上方向に移動させて各液通過路11、12を該第1の容器60から抜き出す。その後、該濃縮装置30自体を、または、容器を載置するステージ

を水平移動することによって、濃縮装置30の下方に第2の容器（図示せず）を載置させる。該濃縮装置30を下方に移動させることによって、各液通過路11、12の双方を該第2の容器内に挿入する。次に、該濃縮装置30の磁力手段31の永久磁石または電磁石を該液通過路11、12から離間させ且つ電磁石では電流を遮断させる。磁場を除去した状態で、該第2の容器から液の吸引吐出を繰り返すことによって分離した磁性粒子を液中に再懸濁する。

【0056】

次に、該圧力調整手段に設けられた栓部33に装着されていた貯溜部32を取り外し代わりにピペットチップ50を該栓部33の突起部34に装着する。また、磁力手段31を移動して該ピペットチップ50の分離領域部に位置するようする。該ピペットチップ50の分離領域部に磁場を及ぼした状態で前記第2の容器に収容された懸濁液の吸引及び吐出を繰り返すことによって、担体を介して目的物質を捕獲した α -磁性粒子を該ピペットチップ50に吸着して分離する。該ピペットチップ50の貯溜部は前記濃縮装置30の貯溜部32よりも小容量であり、該ピペットチップ50が吸引できる容量ずつ吸引吐出を繰り返すことによって行われる。

【0057】

分離した該磁性粒子は該ピペットチップ50に吸着されたままで、該ピペットチップ50を上方向に移動し、該ピペットチップ50が装着された装置自体または容器を移動させることによって、1~2ccの液が収容された第3の容器を該ピペットチップ50の下方に位置させる。次に、該ピペットチップ50に対し、前記磁力手段31によって磁場を除去した状態で、吸引及び吐出によって懸濁または攪拌し、 α -磁性粒子及び目的物質を捕獲した担体から目的物質を溶出又は乖離させる。溶出を行うには、担体がハイドロキシアパタイトの場合には、pHを調整した水溶液を用いること等によりハイドロキシアパタイトを溶かすことによって、また、担体がセルロースキャリアの場合には、攪拌等の物理的処理によって、目的物質を溶出または乖離する。次に、磁力手段31によって該ピペットチップ50の分離領域部に磁場を及ぼして該懸濁液を吸引吐出することによって、 α -磁性粒子のみを分離領域部に吸着して分離し、分離した α -磁性粒子を除

去し、目的物質が懸濁する濃縮された懸濁液を得ることができる。このようにして得られた目的物質が懸濁する濃縮液を用いて種々の処理を行うことができる。

【0058】

ここで、該目的物質が、例えばO157:H7に代表されるようなベロ毒素産生性大腸菌（VTEC）のベロ毒素（VT）遺伝子である場合には、その後、得られた該遺伝子の懸濁液に対して例えば増幅処理を行う。増幅処理を行うには、前記濃縮装置30のピペットチップ50を取り外し、新たなピペットチップを装着する。また、前記ベロ毒素遺伝子を捕獲するために、抗体コーティング磁性粒子（β-磁性粒子）を用いる。

【0059】

第四の実施の形態に係る濃縮装置70について、図4に基づいて説明する。

本実施の形態に係る濃縮装置70は、吸引口74及び吐出口75を有し内部を液体が通過する弾性体で形成された液通過路71と、該液通過路71の外部から、液体に懸濁する目的物質を直接的又は間接的に捕獲した磁性粒子を液通過路の内壁に吸着させることによって分離することが可能な磁場を液通過路内に及ぼすことが可能な磁力手段72と、該液通過路71の途中に設けられ、該液通過路71に液体が通過するように駆動するためのペリスターポンプ（蠕動ポンプ）73とを有するものである。

【0060】

該濃縮装置70は、吸引口74を挿入した、目的物質を捕獲した懸濁液を収容した容器79の槽76と、吐出口75を挿入した容器79の槽77とを用いたものである。前記ペリスターポンプ73は、弾性体で形成された該液通過路71を液体の移送方向に沿って、該液通過路71を外部から、回転押圧部78によって該液通過路71を順次押圧し液体の移送方向に潰して収縮させながら液体を移送するものである。

【0061】

該ペリスターポンプ73を駆動させると、前記弾性体で形成された該液通過路71を回転押圧体が潰しながら進んで液体を吸引口から吐出口に向かって移送する。その際、磁力手段72の磁場を液通路71内へ及ぼすようにすれば、磁場の

影響で、該懸濁液中に含有する磁性粒子が該液通過路71の所定位置の内面に吸着して分離される。又、全液が槽76から槽77に移送された後、吸引口74と吐出口75を該槽76、77の間で入れ換えて磁場を該通過路71内に及ぼしたまま、逆に槽77から液を槽76へ移送するようにしても良い。このような処理を繰り返せば、液中に残留する磁性粒子を漏れなく分離することができる。

【0062】

尚、前記液通過路71の途中に、分離した磁性粒子を再懸濁して吐出するため液通路を切り替える切り替え機構を設けても良い。また、前記液通過路71は、磁性粒子が吸着して分離した場合に、前記ポンプ73等の機構部分から全体又は一部が取り出し可能に設けるようにしても良い。本実施の形態によれば、液体を液通過路を通過させるための機構と、液体とが全く接触しないので、該機構が液体によって汚染等されることが全くない。従って、液通過路を代えるだけで、再利用が可能であり、信頼性のある分離及び濃縮を行うことができる。また、液通過路のみを取り出して、さらなる処理に利用することができるので、コンタミネーションを避け、また処理を迅速化、簡単化することができる。

【0063】

以上の実施の形態は、本発明をより良く理解させるために具体的に説明したものであって、別形態を制限するものではない。したがって、発明の主旨を変更しない範囲で変更可能である。例えば、以上の説明では、圧力調整手段は、ピストン又はピストン式ポンプの場合について説明したが、該場合に限られることなく、遠心式ポンプを用いても良い。また、ピストンは、ボールねじ機構で駆動する場合についてのみ説明したが、該場合に限られることなく、カム機構やリンク機構によって駆動する場合も含む。また、実施の形態で説明した部品のサイズ、素材、構造等や、用いた試薬の種類もこれに限定されるものではない。

【0064】

【発明の効果】

第一の発明、第九の発明、第十四の発明乃至第二十の発明によると、大容量の懸濁液を液通過路を通過させ、または吸引用液通過路から吸引し、吐出用液通過路から吐出するという単純な動作を全懸濁液について繰り返して行う際に、自動

的に懸濁液中の磁性粒子を分離するので、懸濁液中の全磁性粒子を、簡単な構成で漏れなく、効率的且つ容易に分離することができる。

【0065】

本発明によれば、分離した磁性粒子を任意の容量の液に再懸濁することによつて、任意の倍率の濃縮を行うことができる。従つて、培養工程を経ることなく、または培養工程を最小限に行つて、効率的に又は短時間で、目的物質が希薄に懸濁した大容量の懸濁液について、その濃度を高めることができる。

【0066】

細菌等の目的物質が懸濁する懸濁液と、機構的な部分との接触を避け又は最小限にすることができるので、細菌等の微生物やDNA物質等の生体高分子を扱うのに適している。また、磁性粒子が担体を介して間接的に目的物質を捕獲する場合には、磁性粒子に対するコーティング等の加工を行う必要がないので、低価格で処理を行うことができる。

【0067】

第二の発明によれば前記吸引用液通過路及び吐出用液通過路が前記貯溜部の下側で下方に突出するように設けられ該貯溜部の上側に前記圧力調整手段を設けるようにしたので装置をコンパクトに製造することができるとともに、特殊容器を用いることによって濃縮の処理を効率化できる。

【0068】

第三の発明によれば、開口部が細い容器に対しても挿入可能であり、また、磁性粒子の分離を行う際に目詰まり等を防止することができる。

第四の発明によれば、液通過路の内部に確実に磁場を及ぼし且つ除去することができる。

【0069】

第五の発明は、貯溜部内では、吸引された液体の液面とピストンの下端面とは空気層を介して接触しないように制御することによって、汚染のおそれがない信頼性のある処理を行うことができる。

【0070】

第六の発明は、前記圧力調整手段は、前記貯溜部と通気路を介して、該貯溜部

内の気体の吸入及び排出を行うポンプと連通したものである。これによって、貯溜部には、複雑な機構的な部分を設けずに済み、構造が簡単化できるので、洗浄等が容易である。

【0071】

第七の発明によれば、貯溜部を圧力調整手段に対して着脱可能に設けたため、新たな貯溜部を装着することによって、洗浄することなく迅速に処理を進めることがないので効率が良い。

【0072】

第八の発明は、前記圧力調整手段から貯溜部を取り外した場合には、1本のピペットチップが装着可能なものである。これによって、同一の圧力調整手段を用いて、懸濁液と接触する部分のみを交換することによって、効率的に処理を行うことができる。

【0073】

第十の発明によれば、再懸濁用の液通過路を分離用の液通過路と異なるものを用いることによって、効果的に分離と再懸濁を行うことができる。

第十一の発明によれば、液通過路の全部または一部を取り出すことで、分離した磁性粒子を利用することができるので、濃縮等の処理を容易に行うことができる。

【0074】

第十二の発明は、前記濃縮装置と、移動手段と、制御手段と、を有するシステムである。これによって、濃縮処理の一貫した自動化を行うことができる。

【0075】

第十三の発明は、容器が前記吸引用液通過路と吐出用液通過路が各々挿入される2つの槽を有するようにし、各槽の底部は該仕切部に向かって下がり勾配をもつ斜面が形成している。したがって、大容量の液体を残らず吸引し、吐出することができる。迅速に且つ効率的に濃縮を行うことができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明の第一の実施の形態に係る濃縮装置

【図2】

本発明の第二の実施の形態に係る濃縮装置

【図3】

本発明の第三の実施の形態に係る説明図

【図4】

本発明の第四の実施の形態に係る濃縮装置

【符号の説明】

10, 30, 70 … 濃縮装置

11 … 吸引用液通過路

12 … 吐出用液通過路

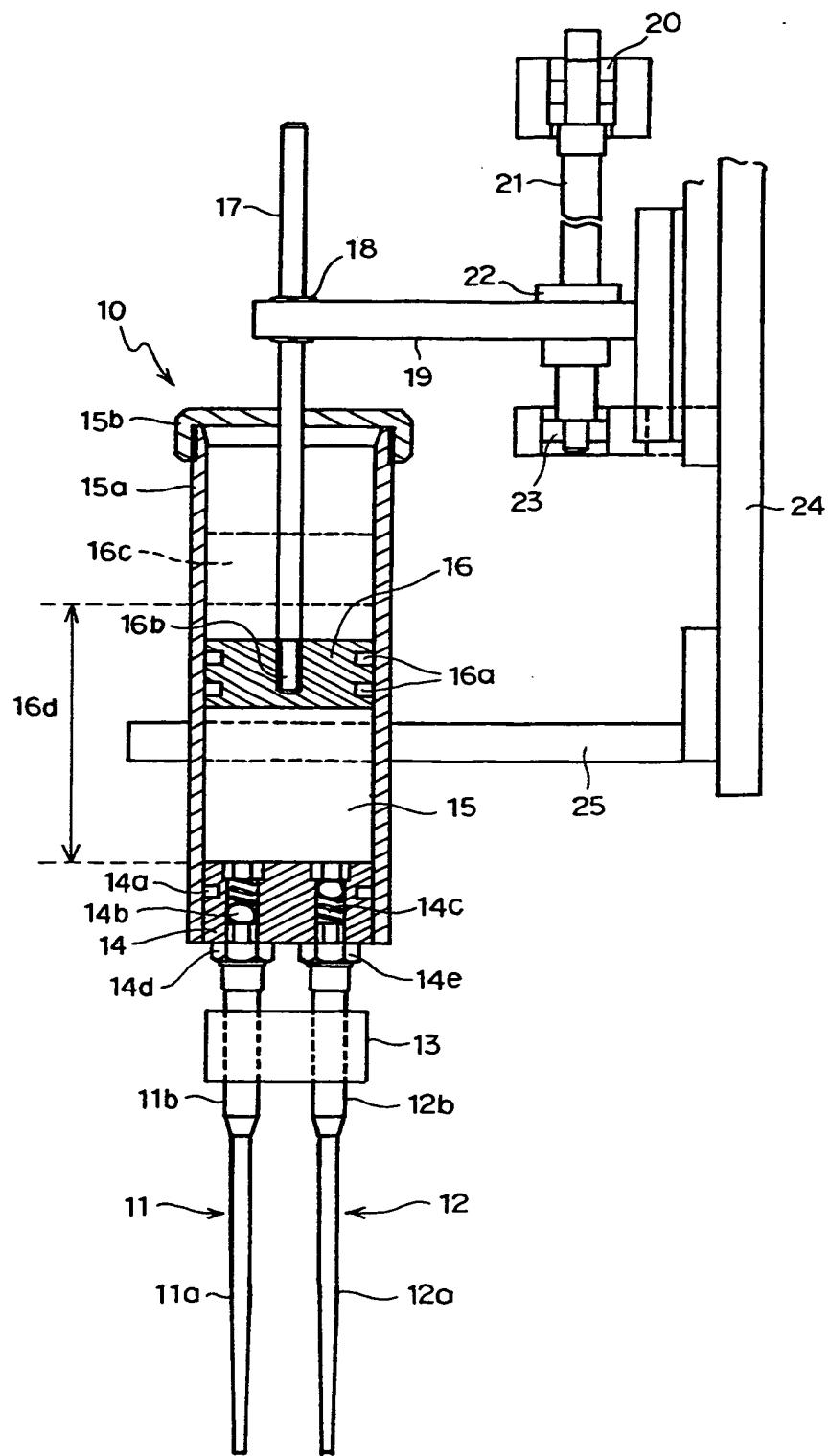
13, 31, 72 … 磁力手段

15, 32 … 貯溜部

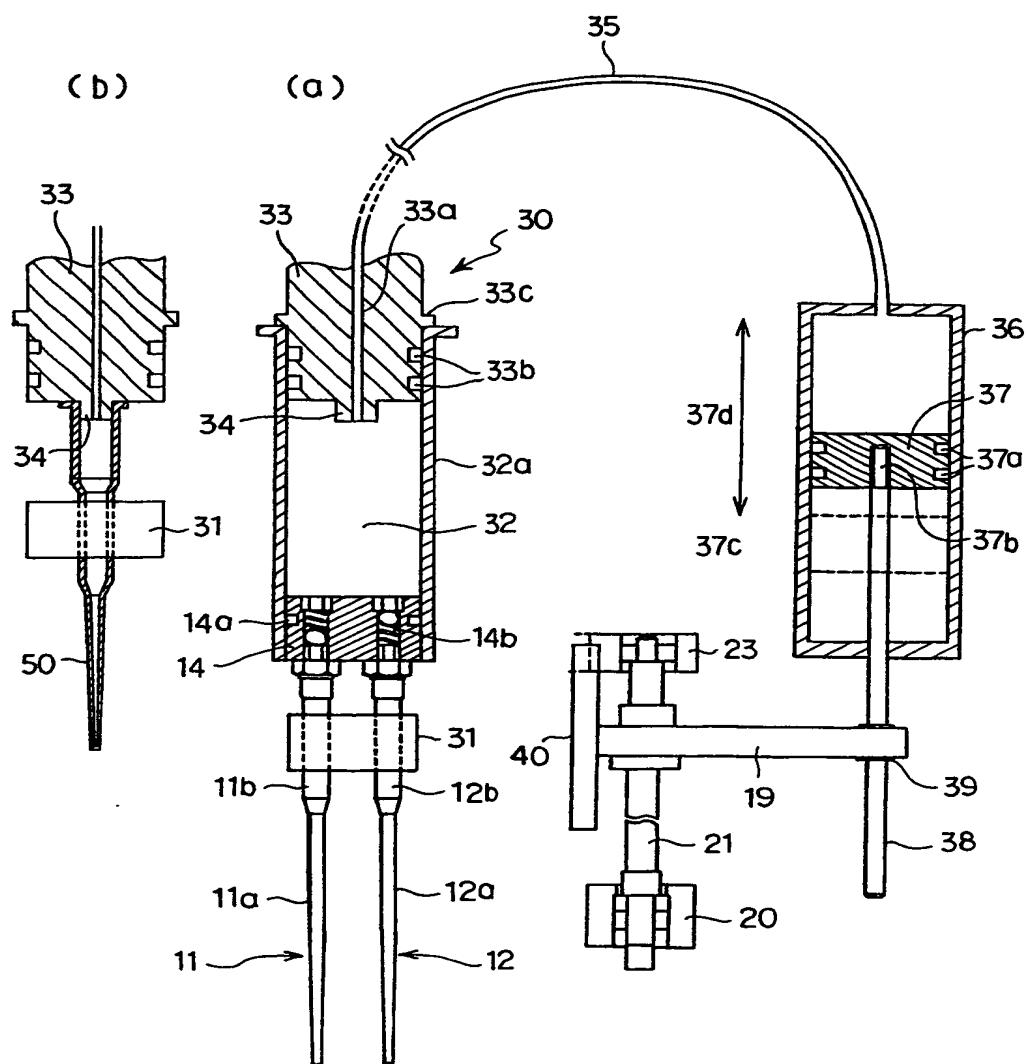
特平11-009672

【書類名】 図面

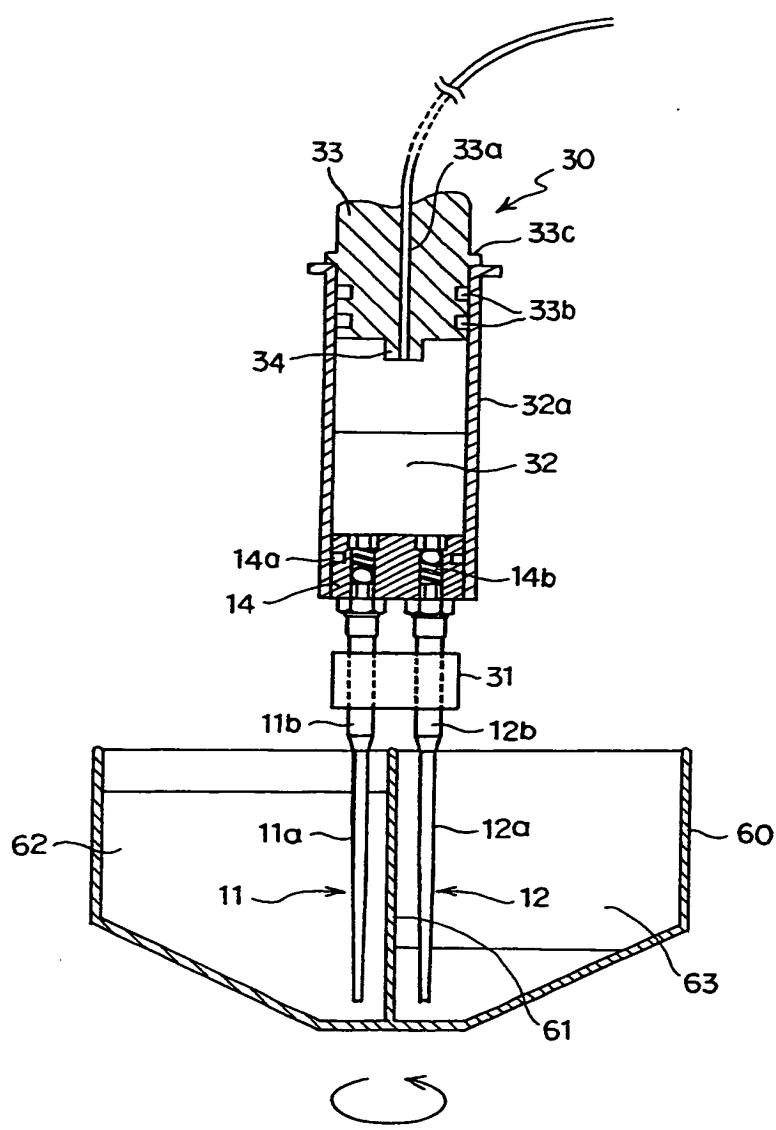
【図1】



【図2】



【図3】



出願人履歴情報

識別番号 [591081697]

1. 変更年月日 1993年 7月13日

[変更理由] 住所変更

住 所 東京都稻城市矢野口1843番地1

氏 名 プレシジョン・システム・サイエンス株式会社